

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: X200326012

UDC _____

厦门大学

硕 士 学 位 论 文

效应物对锯缘青蟹 N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖
苷酶的抑制作用研究

Studies on inhibitory of effectors on
N-Acetyl- β -D-glucosaminidase from *scylla serrata*

杨学敏

指导教师姓名: 陈清西 教授

专 业 名 称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2006 年 6 月 22 日

论文答辩时间: 2006 年 11 月 19 日

学位授予日期: 2006 年 月 日

答辩委员会主席: 黄耀坚

评 阅 人: _____

2006年 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1、保密（ ），在 年解密后适用本授权书。

2、不保密（ ）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：

日期： 年 月 日

导师签名：

日期： 年 月 日

目 录

中文摘要.....	9
英文摘要.....	11
第一章 引言.....	13
1.1 锯缘青蟹简况.....	13
1.1.1 形态特征.....	13
1.1.2 生活习性.....	13
1.1.3 繁殖生物学特点.....	14
1.1.4 青蟹的营养价值与经济价值.....	14
1.1.5 我国青蟹的养殖历史与现状.....	15
1.2 几丁质简介.....	15
1.3 N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶.....	17
1.3.1 N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶的分布.....	18
1.3.2 N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶的生理功能.....	21
1.3.3 N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶的分子生物学.....	23
1.4 本论文的研究意义及研究内容.....	23
第二章 实验材料、仪器与方法.....	25
2.1 实验材料与试剂.....	25
2.2 仪器.....	26
2.3 实验方法.....	26
2.3.1 蛋白质浓度的测定.....	26
2.3.2 酶活力和比活力的测定.....	26
2.3.3 酶的分离纯化.....	27
2.3.4 效应物对酶活力的影响.....	29
2.3.5 效应物对酶的作用机理判断.....	29
2.3.6 效应物对酶的抑制作用类型.....	29
2.3.7 效应物对酶的内源荧光光谱的影响.....	30
2.3.8 酶的抑制或失活作用动力学.....	30

第三章 实验结果	31
3.1 金属离子对青蟹 NAGase 影响的概貌	31
3.1.1 一价金属离子对酶的影响.....	31
3.1.2 二价金属离子对酶的影响.....	31
3.1.3 三价金属离子对酶的影响.....	33
3.2 金属离子对青蟹 NAGase 的抑制作用机理	33
3.3 几种金属离子对酶抑制作用类型	35
3.3.1 Cd^{2+} 对酶抑制作用类型和抑制常数的测定.....	35
3.3.2 Pb^{2+} 对酶的抑制作用类型和抑制常数的测定.....	36
3.3.3 Fe^{3+} 对酶的抑制作用类型和抑制常数的测定.....	37
3.4 几种金属离子对酶内源荧光光谱的影响	39
3.4.1 Pb^{2+} 对酶荧光光谱的影响.....	39
3.4.2 Hg^{2+} 对酶荧光光谱的影响.....	39
3.5 Pb^{2+}对酶的抑制作用动力学研究	40
3.5.1 Pb^{2+} 对酶的抑制作用动力学模型的建立.....	40
3.5.2 Pb^{2+} 对酶的抑制作用动力学的微观速度常数测定.....	43
3.6 醇类物质对酶活力的影响及抑制作用机制	46
3.6.1 醇类物质对酶的效应.....	46
3.6.2 醇类物质对酶的抑制作用表现为可逆效应.....	47
3.6.3 醇类物质对酶的抑制作用类型和抑制常数的测定.....	48
3.7 醛类物质对 NAGase 活力的影响	51
3.7.1 甲醛和苯甲醛对酶的效应.....	51
3.7.2 醛类物质对的抑制作用表现为可逆效应.....	53
3.7.3 甲醛和苯甲醛对酶的抑制作用类型和抑制常数测定.....	54
3.7.4 酶在甲醛溶液中的失活动力学研究.....	57
3.7.4.1 酶在不同浓度甲醛溶液中的失活动力学过程.....	57
3.7.4.2 酶在甲醛溶液中的失活微观速度常数的测定.....	58
3.8 酮类物质对酶活力和构象的影响	63
3.8.1 丙酮和环己酮对酶活力的影响.....	63

3.8.2 酮类物质对酶的抑制作用表现为可逆过程.....	64
3.8.3 酮类物质对酶的抑制作用类型和抑制常数测定.....	65
3.8.4 酶经丙酮作用后的荧光发射光谱的变化.....	67
3.9 甲酰胺类物质对酶催化活性的影响及抑制作用机制.....	68
3.9.1 N,N-二甲基甲酰胺和甲酰胺对酶活力的效应.....	68
3.9.2 甲酰胺类物质对酶的抑制作用类型.....	70
3.10 糖类对酶活力影响及抑制作用机制.....	71
3.10.1 糖类对酶活力的影响.....	71
3.10.2 糖类对酶抑制作用机理的判断.....	72
3.10.3 糖类对酶抑制作用类型及抑制速度常数的测定.....	73
第四章 讨论.....	78
4.1 金属离子对青蟹 NAGase 催化活性的影响.....	78
4.2 几种金属离子对酶内源荧光光谱的影响.....	79
4.3 Pb^{2+} 对酶的抑制作用动力学研究.....	80
4.4 有机溶剂对酶催化活性的影响及抑制作用机制.....	80
4.5 酶在甲醛溶液中的失活作用动力学.....	81
4.6 丙酮对酶分子构象的影响.....	82
4.7 糖类物质对酶活力的影响.....	82
结论.....	84
参考文献.....	85
发表论文.....	95
致谢.....	96

Contents

Chinese Abstract	9
English Abstract	11
Chapter 1. Introduction	13
1.1 Review of <i>Scylla serrata</i>	13
1.1.1 Shape Character.....	13
1.1.2 Life Behaviour.....	13
1.1.3 Biological Characteristic of Breeding.....	14
1.1.4 The Trophic and Economic Values of <i>Scylla serrata</i>	14
1.1.5 The Breeding History and Status of <i>Scylla serrata</i>	15
1.2 Review of Chitin	15
1.3 N-Acetyl-β-D- glucosaminidase	17
1.3.1 Distribution of N-Acetyl- β -D- glucosaminidase.....	18
1.3.2 Physiological Function of N-Acetyl- β -D- glucosaminidase.....	21
1.3.3 Molecular Biology of N-Acetyl- β -D- glucosaminidase.....	23
1.4 Significance and Contents of the Research	23
Chapter 2. Materials Instruments and Methods	25
2.1 Materials and Reagents	25
2.2 Instruments	26
2.3 Methods	26
2.3.1 Assay of Protein Concentration.....	26
2.3.2 Assay of the NAGase Activity.....	26
2.3.3 Gain of the NAGase.....	27
2.3.4 Effects of Effectors on the Activity of NAGase.....	29
2.3.5 Determination of the inhibitory mechanism of effectors.....	29
2.3.6 The Inhibitory Type of Effectors on NAGase.....	29
2.3.7 Effects of Some Effectors on the Intrinsic Fluorescence Spectra.....	30
2.3.8 Assay of the Inhibition or Inactivation Kinetics.....	30

Chapter 3. Results	31
3.1 General Picture of Metal Ions on the NAGase From <i>Scylla serrata</i>	31
3.1.1 Effects of Univalent Metal Ions on the NAGase	31
3.1.2 Effects of Bivalent Metal Ions on the NAGase	31
3.1.3 Effects of Trivalence Metal Ions on the NAGase	33
3.2 The inhibitory mechanism of Metal Ions on the NAGase	33
3.3 Inhibitory Type of Some Metal Ions on the NAGase	35
3.3.1 Inhibitory Type and Inhibition Constants of Cd^{2+}	35
3.3.2 Inhibitory Type and Inhibition Constants of Pb^{2+}	36
3.3.3 Inhibitory Type and Inhibition Constants of Fe^{3+}	37
3.4 Fluorescence Spectra of NAGase in the Some Metal Ions	39
3.4.1 Fluorescence Spectra of NAGase in the Zn^{2+} Solution	39
3.4.2 Fluorescence Spectra of NAGase in the Hg^{2+} Solution	39
3.5 Inhibition Kinetics of of NAGase in Pb^{2+}	40
3.5.1 Inhibition Kinetics Model of of NAGase in Pb^{2+}	40
3.5.2 Microscopic Inhibition Rate Constants of NAGase in Pb^{2+}	43
3.6 Effects of Alcohols on Activity of NAGase and Inactivation Mechanism	46
3.6.1 Effects of Alcohols on the NAGase	46
3.6.2 Effects of Alcohols on the NAGase activity is reversible	47
3.6.3 The Inhibitory Type and Inactivation Constants of Alcohols on NAGase	48
3.7 Effects of Aldehydes on the NAGase	51
3.7.1 Effects of Formaldehyde and Benzldehyde on Activity of NAGase	51
3.7.2 Effects of Aldehydes on the NAGase activity is reversible	53
3.7.3 The Inhibitory Type and Inactivation Constants of Aldehydes on NAGase	54
3.7.4 Inactivation Kinetics of NAGase by Formaldehyde	57
3.7.4.1 Inactivation Kinetics Course on NAGase in Formaldehyde	57
3.7.4.2 Microscopic Inactivation Rate Constants of Formaldehyde	58
3.8 Effects of Ketones on Activity and Conformation of NAGase	63
3.8.1 Effect of Acetone and Cyclohexanone on Activity of NAGase	63

3.8.2 Effects of Ketones on the NAGase activity is reversible.	64
3.8.3 The Inhibitory Type and Inhibition Constants of Ketones on NAGase.	65
3.8.4 The enzyme's fluorescence spectrum changed by Acetone.	67
3.9 Effects of Formamides on the NAGase and Inactivation Mechanism.	68
3.9.1 Effects of DMF and Formamides on the NAGase.	68
3.9.2 Inhibitory type of DMF and Formamide on NAGase.	70
3.10 Effects of Glucides on NAGase and Inhibitory Mechanism.	71
3.10.1 Effects of Glucides on NAGase.	71
3.10.2 Inhibitory Mechanism of Glucides on NAGase.	72
3.10.3 Inhibitory Type and Inhibition Constants of Glucides on NAGase	73
Chapter 4. Discussion.	78
4.1 Effects of Metal Ions on the Activity NAGase.	78
4.2 Fluorescence Spectra of NAGase in the Some Metal Ions	79
4.3 Inhibition Kinetics of of NAGase in Pb^{2+}	80
4.4 Effects of Organic Pollutants on NAGase and Inhibition Mechanism.	80
4.5 Inactivation Kinetics of NAGase by Formaldehyde.	81
4.6 Effect of Acetone on the Conformation of NAGase.	82
4.7 Effects of Glucides on NAGase.	82
Conclusions.	84
References.	85
Papers.	95
Acknowledgements.	96

摘 要

以青蟹内脏为材料, 分离提纯 N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶 (NAGase), 获得比活力为 7,990 U/mg 的 PAGE 和 SDS-PAGE 电泳单一纯的酶制剂。本文以此酶制剂为对象展开以下几方面的研究。

(1) 金属离子对酶活力的影响: 结果表明, 一价金属离子中的 Li^+ 、 Na^+ 和 K^+ 对酶活力没有明显影响, 而 Ag^+ 对该酶有较强的抑制作用 (IC_{50} 为 2.32 mmol/L)。二价金属离子中 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Co^{2+} 和 Mn^{2+} 对该酶都有激活作用, 其中 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 和 Ba^{2+} 的激活作用较强, 其强度依次为 $\text{Ca}^{2+} > \text{Ba}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$, 而 Mn^{2+} 对酶仅有轻微的激活作用, Co^{2+} 对酶的效应则是先激活后抑制。 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Hg^{2+} 对该酶有不同程度的抑制作用, Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 对酶的抑制表现为可逆过程, Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 对酶的抑制作用属于混合型, Cd^{2+} 的抑制常数 K_I 和 K_{IS} 分别为 23.9 和 5.0 mmol/L, Pb^{2+} 的抑制常数 K_I 和 K_{IS} 分别为 0.70 和 6.22 mmol/L。 Hg^{2+} 对酶的抑制作用是不可逆的。应用荧光发射光谱研究 Pb^{2+} 和 Hg^{2+} 对酶分子构象的影响, 比较酶构象与酶活力的关系, 发现 Pb^{2+} 、 Hg^{2+} 使酶活力的变化快于构象的变化。采用邹氏方法研究 Pb^{2+} 对酶的抑制作用动力学, 建立动力学模型, 测定抑制剂与游离酶(E)和酶-底物络合物(ES)结合的微观速度常数, 并加以比较, 表明底物对酶的抑制作用有明显的保护作用。三价金属离子 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 对该酶均表现为可逆的抑制作用, Fe^{3+} 对酶的抑制作用属于混合型, Fe^{3+} 的抑制常数 K_I 和 K_{IS} 分别为 395.5 和 135.6 $\mu\text{mol/L}$ 。

(2) 有机溶剂对酶的效应: 酶在醇类、醛类、酮类、甲酰胺类等有机溶剂中均表现为可逆的抑制作用。醇类物质中甲醇、乙醇、乙二醇、丙二醇和丙三醇对酶的抑制作用属于竞争性(K_I 分别为 1.20、0.49、1.69、1.32、1.27 mol/L)。醛类物质中甲醛对酶的抑制为非竞争性抑制(K_I 为 0.608 mol/L), 而苯甲醛对酶的抑制属于竞争性(K_I 为 0.012 mol/L), 进一步研究甲醛对酶的失活作用动力学, 建立了动力学模型, 测定抑制剂与游离酶(E)和酶-底物络合物(ES)结合的微观速度常数, 表明在甲醛存在下, 底物对酶的抑制作用有明显的保护作用。酮类物质中丙酮对酶产生混合型抑制(K_I 和 K_{IS} 分别为 0.406 和 1.049 mol/L), 而环己酮对酶的抑制属于竞争性(K_I 为 1.33 mol/L), 应用荧光发射光谱研究丙酮对酶分子构象的影响, 结果显示丙酮对酶分子构象有显著的影响。甲酰胺物质中甲酰胺对酶的抑

制是竞争性(K_I 为 0.72 mol/L), N,N-二甲基甲酰胺对酶则产生混合型抑制(K_I 和 K_{IS} 分别为 0.56 和 2.63 mol/L)。

(3)糖类物质对酶的作用: 研究结果表明, N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖(NAG)、D-葡萄糖、D-果糖、D-半乳糖、蔗糖等糖类对酶均有不同程度的抑制作用, 其中 NAG 对酶的抑制作用较为显著, 其 IC_{50} 为 10.9 mmol/L。NAG 对酶的抑制作用表现为反竞争性抑制(K_{IS} 为 4.37 mmol/L), 葡萄糖、半乳糖及蔗糖表现为非竞争性抑制(K_I 分别为 125.0, 394.0 和 474.0 mmol/L), 果糖则表现为竞争性抑制(K_I 为 455.0 mmol/L)。

关键词: 锯缘青蟹; N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶; 效应物; 抑制作用

Abstract

N-Acetyl- β -D-glucosaminidase (NAGase, EC 3.2.1.52) was purified from viscera of green crab (*Scylla serrata*) and determined to be homogeneous by polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and SDS-PAGE with specific activity to be 7,990 U/mg. This purified enzyme will be used in the following studies.

(1) The effects of several metal ions on the enzyme activity had been studied. The results show that: Li^+ , Na^+ and K^+ have no effects on the activity of NAGase from *Scylla serrata*, while Ag^+ can inhibit the enzyme activity with the inhibitor concentration leading to 50% of enzyme activity lost (IC_{50}) were estimated to be 2.32 mmol/L. Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} and Mn^{2+} can activate the enzyme. Mg^{2+} , Ca^{2+} and Ba^{2+} can activate the enzyme with the order of $\text{Ca}^{2+} > \text{Ba}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$ in the intensity, while Mn^{2+} has a little active effects on the enzyme. The effect of Co^{2+} activate the enzyme at the concentrations lower than 4 mmol/L but inhibit it at higher concentrations. Cd^{2+} , Pb^{2+} and Hg^{2+} inhibit the enzyme activity in different degree. The effects of Cd^{2+} and Pb^{2+} on the enzyme activity are reversible. The inhibition type of Cd^{2+} and Pb^{2+} on the enzyme belong to be mix-typed. The combination constants of Cd^{2+} with the free enzyme (K_I) and the enzyme-substrate complex (K_{IS}) were determined to be 23.9 and 5.0 mmol/L, while the values of K_I and K_{IS} of Pb^{2+} were determined to be 0.70 and 6.22 mmol/L. The effect of Hg^{2+} is irreversible. Conformational changes of the enzyme in different concentrations of Pb^{2+} and Hg^{2+} were measured by fluorescence spectra. The change of activity was more quickly than that of conformation on NAGase when inhibited by Pb^{2+} and Hg^{2+} . The inhibition kinetics of the enzyme by Pb^{2+} has been studied using the kinetic method of the substrate reaction during inhibition of enzyme activity previously described by Tsou. The microscopic rate constants for the reaction of this inhibitor with free enzyme and the enzyme-substrate complex were determined. Comparison of these rate constants indicates that the presence of substrate offers marked protection of the enzyme against inhibition by Pb^{2+} , Al^{3+} and Fe^{3+} also inhibit the enzyme activity. The effects of Al^{3+} and Fe^{3+} on the enzyme activity are reversible. The results show that the inhibition type of Fe^{3+} on the enzyme belongs to be mix-typed. The values of K_I and K_{IS} of Fe^{3+} were determined to be 395.5 and 135.6 $\mu\text{mol/L}$, respectively.

(2) The effects of organic solvent on the enzyme activity had been studied. The

results show that: alcohols, aldehydes, ketones and formamides all inactivate the enzyme activity and their inhibition belongs to be reversible reaction with remaining activity. The inhibition of the enzyme in methanol, ethanol, ethylene glycol, propylene glycol and glycerol are found to be competitive (with the K_I determined to be 1.20, 0.49, 1.69, 1.32, 1.27 mol/L). The inhibition of the enzyme in formaldehyde is found to be uncompetitive (with the K_I determined to be 0.608 mol/L), while benzaldehyde is classified as competitive type (with the K_I determined to be 0.012 mol/L). The inactivations of the enzyme by formaldehyde have been studied. The microscopic rate constants for the reaction of this inactivator with free enzyme and the enzyme-substrate complex were determined. Comparison of these rate constants indicates that the presence of substrate offers marked protection of the enzyme against inactivation by formaldehyde. In the ketones, acetone belongs to be mixed type inhibitor (with the K_I and K_{IS} determined to be 0.406 and 1.049 mol/L), while cyclohexanone is classified as competitive type (with the K_I determined to be 1.33 mol/L). Conformational changes of the enzyme in different concentrations of acetone were ulteriorly measured by fluorescence spectra. The change of conformation was more quickly than that of activity on NAGase when inhibited by acetone. Formamide is classified as competitive type (with the K_I determined to be 0.72 mol/L) and N, N-Dimethylformamide (DMF) belongs to be mixed type inhibitor (with the K_I and K_{IS} determined to be 0.56 and 2.63 mol/L).

(3) The effects of glucides on the enzyme activity had been studied. The results show that: NAG, glucose, galactose, fructose and sucrose can inhibit the enzyme activity for the hydrolysis of pNP-NAG and their inhibition belongs to be reversible reaction with remaining activity. NAG is most potent in these compounds tested. The inhibitor concentration leading to 50% of enzyme activity lost (IC_{50}) were estimated to be 10.9 mmol/L. The inhibitory type of NAG on the enzyme was found to be uncompetitive and the inhibitory constant (K_{IS}) was determined to be 4.37 mmol/L. Glucose, galactose, sucrose were classified as noncompetitive inhibitors (with the K_I determined to be 125.0, 394.0, 474.0 mmol/L). Fructose was classified as competitive (with the K_I determined to be 455.0 mmol/L).

Keywords: green crab (*Scylla serrata*); N-Acetyl- β -D-glucosaminidase; effectors; inhibitory

第一章 引言

1.1 锯缘青蟹简况

锯缘青蟹 (*Scylla serrata* (Forsk.))俗称青蟹、蜡蚌、闸蟹、肉蟹等（以下简称为青蟹），分类学上隶属于节肢动物门(Arthropoda)、甲壳纲(Crustacea)、十足目(Decapoda)、梭子蟹科(Portunidae)，青蟹属(*Scylla*)。广泛分布于温带、亚热带和热带的海域。主要分布于中国、日本、东南亚各国澳大利亚及新西兰沿海到非洲东、南部，包括整个太平洋到印度洋区。我国尤以浙江、福建、广东、台湾为多。青蟹个体大、生长快、适应性较强，且营养丰富、商品价值高，是我国东南沿海重要的海洋经济蟹类之一^[1]。



1.1.1 形态特征

青蟹体呈宽卵圆形，外形近似梭子蟹。具坚厚的甲壳，额缘、前缘均有刺。头胸甲隆起而光滑，呈青绿色，长约9~10厘米，宽13~14厘米。胃区与心区间有明显的“H”形凹痕，前两侧的最后1刺不向左右特别伸出。螯足强大，左右不对称。前3对步足指节的前、后缘具刷状短毛。末对步足粗而宽，末节宽扁呈桨状，形成游泳足。雄性腹部呈尖三角形，雌性腹部呈圆形。青蟹，因其背部呈青绿色而得名，又因其前侧缘各有侧齿9枚，其形状很像锯齿，所以学名叫锯缘青蟹。

1.1.2 生活习性

青蟹通过长期的自然选择，已形成了其适应自然环境的多种生态习性，为其

生存和发展创造了条件。青蟹喜爱栖息在岛屿周围和港湾岩缝及浅海、滩涂、红树林沼泽地、围垦区、河口的泥滩等。从高潮区至水深4米左右的海底部都有锯缘青蟹的踪迹。青蟹通常白天静伏，多在夜间寻找食物。

1.1.3 繁殖生物学特点^[2]

(1) 青蟹的生长是不连续的，总是伴随着幼体的蜕皮，蟹种的蜕壳而进行的。它的一生大约要经过13次蜕壳，即幼体发育蜕皮6次，生长蜕壳6次和生殖蜕壳1次。蟹苗可人工育成，经15~45天的饲养后，雌蟹的卵巢成熟充满整个头胸甲成为膏蟹，雄蟹肌内丰满成为肉蟹，便可收获。福建省沿海的青蟹肉满膏红，性成熟季节为1-3月，繁殖季节为3-10月，寿命约1-2年。

(2) 青蟹属杂食性的甲壳动物，不同生长阶段食性有所差异，幼蟹偏于杂食性，个体愈大趋向肉食性，喜爱摄食兰蛤、短齿蛤、毛蚶和小杂鱼虾类，也摄食一些植物。它们在食性上具有互残性、暴食性、耐饥性和阶段性。

(3) 青蟹为广盐性的，其适应盐度为5‰~33.2‰，最适盐度为13.7‰-26.9‰，雨季盐度降到7.0‰以下时，常打洞穴居，以此度过不良环境。青蟹也是广温性的，最适水温为15~32℃，水温低于15℃，青蟹活动时间缩短，活动能力下降，摄食量明显减少。水温在12℃时开始穴居，水温降至6~7℃时，即停止摄食和活动，进入冬眠状态，水温升到35℃时，则出现明显不适应。适宜海水比重为1.008~1.025，最适生长比重1.010~1.021。比重突变往往导致胸足基部肌肉呈红色或白色的症状。适宜PH值为7.5~8.7，含氧量不低于3.5毫克/升。

(3) 青蟹具“自切”和“再生”现象。当青蟹受到强烈刺激、敌害攻击或机械损伤时，常将附肢从基部折断，这种现象叫“自切”。而数天后，在肢体断落处会慢慢地重新长出附肢来，这种现象叫“再生”。青蟹的“自切”、“再生”具有保护自己、防御敌害的功能，是青蟹长期适应自然界生存竞争的结果。

1.1.4 青蟹的营养价值和经济价值

青蟹味道鲜美，尤其是雌蟹肉黄丰满，营养丰富，含有丰富的蛋白质，氨基酸种类齐全，含有多多种单不饱和与多不饱和脂肪酸，并含丰富的无机元素。尤其是Se、Ca含量很高，其他必需元素Mg、Fe、Cu、Zn、Mn等含量也较高^[3]。青蟹

特别是膏蟹，既是人们夏秋季节佐酒、待客之佳肴，又是妇女“坐月子”吃的滋补佳品和治疗小孩“夜尿症”的良药，有滋补、抗衰老、抗癌的功效，是一种营养价值很高，并具有保健功能的海产品。青蟹的经济价值较高，青蟹的最大特点是离水后不易死亡，可就近或远销活蟹，是我国水产品传统的出口品种。

1.1.5 我国青蟹的养殖历史与现状

锯缘青蟹是人工养殖的优良品种，它的养殖在中国有100年的历史，在亚洲有30多年的历史^[4]。目前青蟹养殖引起各国政府的高度重视，特别是亚洲各国都将青蟹作为主要养殖的后备品种，投入大量资金和人力集中攻关。欧盟2001年12月拨款900万欧元科研经费给4个研究单位从事青蟹养殖研究。我国政府也非常重视青蟹的研究开发，国家科技部已将青蟹养殖列入“863”高新技术项目，沿海各地政府也投入相应的项目经费。

由于青蟹具有个体大(性成熟后可达0.25~0.5 kg / 只)、生长快(从体宽只有2~3 mm大小的第一期仔蟹经4个月的养殖可长到每只0.2~0.25 kg, 经6个月的饲养便可达性成熟)、养殖周期短、适应性强、抗病能力强、耐干露、营养价值高、市场价格好和养殖效益高等特点，深受养殖生产者和消费者的喜爱，已成为我国东南沿海省区和东南亚一带重要的养殖对象。随着青蟹人工育苗技术的突破、养殖技术的改进、多种养殖形式的开发，进一步推动了养殖业的发展，养殖规模不断扩人，养殖产量不断提高。

近年来，我国的对虾养殖受病害等影响生产效益普遍下降，而青蟹人工养殖目前主要靠海区自然苗，养殖产量受苗源丰歉的制约很不稳定^[4,5]。

1.2 几丁质简介

除淀粉、纤维素外，称为人类第三大生物资源的几丁质（Chitin）又称甲壳素、甲壳质，化学名称为 1,4-2-乙酰氨基-2-脱氧-β-D-葡萄糖，是由 N-乙酰-D-葡萄糖胺以 β-1,4 糖苷键连接而成的线性多糖^[6,7]，结构为 β-聚-N-乙酰葡萄糖胺，其结构式见图 1。经结构分析，几丁质和几丁聚糖的化学结构和植物中广泛存在的纤维素非常相似，都是糖的聚合体，分子量相当大，都是 100 万以上，所不同

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库